

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 許出願公開番号

特開2001-157855

(P2001-157855A)

(43) 公開日 平成13年6月12日 (2001.6.12)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テマコード (参考)

B 0 3 C 5/00

B 0 3 C 5/00

Z 4 B 0 2 9

B 0 1 D 57/02

B 0 1 D 57/02

4 D 0 5 4

// C 1 2 M 1/00

C 1 2 M 1/00

A

審査請求 有 請求項の数 6 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願平11-345050

(22) 出願日 平成11年12月3日 (1999.12.3)

特許法第30条第1項適用申請有り 1999年6月7日～6月10日開催の「TRANSducers'99」において文書をもって発表

(71) 出願人 000006792

理化学研究所

埼玉県和光市広沢2番1号

(72) 発明者 洪 ▲じょん▼▲うく▼

東京都文京区大塚3-34-9-803

(72) 発明者 藤井 輝夫

東京都目黒区上目黒5-17-1-207

(72) 発明者 関 実

東京都世田谷区北沢2-37-19

(74) 代理人 100087000

弁理士 上島 淳一

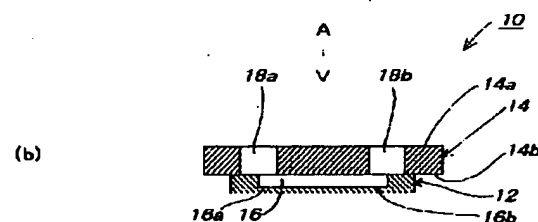
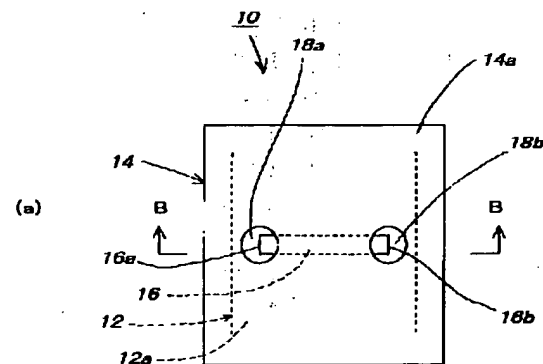
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 安価に製造することができて1回のみ電気泳動分離に使用しただけで廃棄するのに適したキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップを提供する。

【解決手段】 ポリマー材料により形成した平板状の基板と、基板の上面に配設される平板状の表面板とを有し、基板の上面に、所定の形状の流路を構成するキャピラリーチャンネルを形成し、表面板によってキャピラリーチャンネルを封止した。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 ポリマー材料により形成した平板状の基板と、

前記基板の上面に配設される平板状の表面板とを有し、
前記基板の上面に、所定の形状の流路を構成するキャピラリーチャンネルを形成し、
前記表面板によって前記キャピラリーチャンネルを封止したものであるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ。

【請求項2】 請求項1に記載のキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップにおいて、
前記基板は、PDMS（ポリジメチルシロキサン）により形成したものであるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ。

【請求項3】 請求項1または請求項2のいずれか1項に記載のキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップにおいて、
前記基板の上面に形成されたキャピラリーチャンネルの表面を親水化したものであるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ。

【請求項4】 請求項3に記載のキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップにおいて、
前記基板の上面に形成されたキャピラリーチャンネルの表面の親水化は、前記基板の上面に形成されたキャピラリーチャンネルの表面を酸素プラズマにより酸化して親水化したものであるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ。

【請求項5】 キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの製造方法において、
キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップにおけるキャピラリーチャンネルのレイアウトのパターンを透明フィルムに印刷してフォトリソグラフィーのマスクを作成する第1の処理と、
シリコンウエハ上にネガティブフォトレジストを作成する第2の処理と、
前記第1の処理により作成されたマスクに印刷されたレイアウトのパターンを、前記第2の処理により作成されたネガティブフォトレジスト上に転写して現像することにより、マスターを作成する第3の処理と、
前記第3の処理により作成されたマスターをフルオロカーボンで処理する第4の処理と、
前記第4の処理によりフルオロカーボンで処理されたマスター上にPDMSのアレポリマーとキュアリング試薬との混合液を注いで所定温度で所定時間キュアリングする第5の処理と、
前記第5の処理における所定時間のキュアリングを終了した後に、PDMSレプリカをマスターから引き剥がし、該PDMSレプリカをキャピラリーチャンネルを形成された基板として得る第6の処理と、
前記第6の処理において得られた基板に表面板を被せて

取り付け封止する第7の処理と、

前記第7の処理において表面板を取り付けたPDMSの基板に形成されたキャピラリーチャンネルの表面を親水化する第8の処理とを有するキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの製造方法。

【請求項6】 請求項5に記載のキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの製造方法において、
前記第8の処理におけるPDMSの基板に形成されたキャピラリーチャンネルの表面の親水化は、前記第7の処理において表面板を取り付けたPDMSの基板を酸素プラズマにより酸化することにより、該基板に形成されたキャピラリーチャンネルを酸素プラズマにより酸化して該キャピラリーチャンネルの表面を親水化するものであるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法に関し、さらに詳細には、微小スケールで様々なサイズのDNA断片をはじめとする核酸、あるいは、アミノ酸・ペプチド・タンパク質などの有機分子、金属イオンなどを分離する際に用いて好適なキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より、フォトリソグラフィーの技術による微細加工によって、平板ガラスよりなるチップ上にキャピラリーチャンネル（微細流路）を形成してキャピラリー電気泳動用チップを構成し、こうして構成したキャピラリー電気泳動用チップを用いることにより、高性能で高速な電気泳動分離を行うことが可能であることが知られている。

【0003】ところで、上記したキャピラリー電気泳動用チップに関しては、ガラスやSi/SiO₂などのシリコンを材料としたチップを用いて、チップ上に微細加工によりキャピラリーチャンネルを形成する研究が数多く行われてきている。

【0004】しかしながら、キャピラリー電気泳動用チップの材料としてガラスやシリコンを用いる場合には、電気泳動分離に用いるキャピラリーチャンネルを作成したり、作成したキャピラリーチャンネルの封止（シール）を確実にしたりするために、作業工程が煩雑であるエッチングや接合のプロセスを行う必要があった。

【0005】それゆえに、ガラスやシリコンを材料として用いたキャピラリー電気泳動用チップは、製造コストが増大することになって高価なものとならざるを得ず、1回のみ電気泳動分離に使用しただけで廃棄するにはコスト的に割に合わないものとなっていた。

【0006】従って、ガラスやシリコンを材料として用いたキャピラリー電気泳動用チップにおいては、繰り返し電気泳動分離に使用することを可能とするために、キ

キャピラリーチャンネル内に充填する分離材料（分子篩い）としては、充填後に除去することが困難なゲルを用いることなしに、充填後にキャピラリーチャンネル内から自由に流し去ることが可能な緩衝溶液や、置換が容易な直鎖状のポリアクリルアミドやヒドロキシプロピルセルロースのような高分子（ポリマー）溶液を用いる必要があり、こうした分子篩いを用いて電気泳動分離を行っていた。

【0007】ところが、ガラスやシリコンを材料として用いたキャピラリー電気泳動用チップにおいて、分子篩いとして緩衝溶液やポリマー溶液を用いて電気泳動分離を行う場合には、高電圧を使用する必要があるとともに、電圧印加のときに起こる拡散や対流の発生を防ぐために微妙な電場の制御が必要であるために、電気設備や検出装置が複雑になってコスト高を招来するという問題点があるとともに、分離度を上げるためには長いキャピラリーチャンネルを必要とするためチップを大型化せざるを得ないという問題点があった。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、従来の技術の有する上記したような種々の問題点を鑑みてなされたものであり、その目的とするところは、安価に製造することができて1回のみ電気泳動分離に使用しただけで廃棄するのに適した、即ち、使い捨て可能なキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法を提供しようとするものである。

【0009】また、本発明の目的とするところは、分子篩いとしてゲルを用いることを可能にして、高電圧を使用することなく低電圧で電気泳動分離を行うことができるようにするとともに、電圧印加のときにおける拡散や対流の発生を抑止するようにし、これにより電気設備および検出装置の簡素化を図ってコストを大幅に低減することができるようにしたキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法を提供しようとするものである。

【0010】さらに、本発明の目的とするところは、分子篩いとしてゲルを用いることを可能にして、電気泳動分離における分離度の向上、分離距離の短縮化および分離時間の短縮化を図ることにより、電気泳動分離における分離性能を向上させ、高分解能の電気泳動分離を行うことを可能にしたキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法を提供しようとするものである。

【0011】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するために、本発明は、高分子（ポリマー）材料、例えば、PDMS（ポリジメチルシロキサン）により形成されたマイクロチップに微細加工を施し、当該マイクロチップ上にキャピラリーチャンネルを形成するようにしたものである。

【0012】ここで、微細加工によるキャピラリーチャンネルを形成するためのマイクロチップの材料としては、従来においては上記したようにガラスやSi/SiO₂などのシリコンを用いていたが、ガラスやSi/SiO₂などのシリコンに較べて安価でありかつ壊れにくいという観点から、ポリマー材料を用いることが好ましいものである。

【0013】殊に、ポリマー材料の中のシリコンエラストマーの一種であるPDMSは、マイクロスケールでの型取り（モールドイング：molding）に適した材料であり、これを用いることによって電気泳動分離のための微細構造たるキャピラリーチャンネルを安価に加工成形することができるようになる。

【0014】即ち、PDMSにより形成されたマイクロチップは、キャピラリーチャンネルを形成する際に、作業が複雑なエッチングや接合のプロセスを必要とせず、単純で安価な型取りと封止（シール）との手法によって簡単にキャピラリーチャンネルを形成することができるものである。

【0015】従って、本発明によるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップは安価に提供することができるようになるので、本発明によるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップによれば、1回のみ電気泳動分離に使用しただけで廃棄する、所謂、ディスボーザブルな使用（使い捨て的使用）が可能となるものである。

【0016】しかも、上記したように使い捨て的使用を可能とした場合には、キャピラリーチャンネルに充填する分離材料たる分子篩いとして、充填後にキャピラリーチャンネルから除去可能な緩衝溶液やポリマー溶液を用いる必要がなくなるものである。

【0017】このため、本発明においては、キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ上に形成されたキャピラリーチャンネルに部分的にゲル（例えば、アガロースゲル）を充填し、そのことによって、従来より分子篩いとして用いられてきた緩衝溶液やポリマー溶液を用いたチップ上の電気泳動分離に較べて、分離の分解能を向上させることができるようになるとともに、分離に必要なキャピラリーチャンネルの長さを短くすることができるようになる。

【0018】即ち、本発明によるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップによれば、キャピラリーチャンネルに充填する分子篩いとしてゲルを用いることができるので、キャピラリーチャンネルの流路を長くしたり、拡散や対流の問題を防ぐための微妙な電場の制御を行ったりすることなしに、高分解能で電気泳動分離を行うことが可能となる。

【0019】従って、本発明によれば、電気泳動分離のために安価なPDMSより形成されるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップを用いて、簡単な装置で様々なサイズのDNA分子を分離することが可能となるもの

である。

【0020】後述するように、本願出願人による実験によれば、アガロースゲルを充填した本発明によるPDMS製のキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ上で、実際にDNA分子を電気的に分離し、分子量に対応するバンドを形成させることに成功した。つまり、後述する本願出願人による実験においては、分子篩い用のゲルとして、まず、本発明によるPDMS製のキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの適用性を示すためにアガロースを用い、FITCで標識したDNAラダーの分離を行ったものである。

【0021】即ち、本発明のうち請求項1に記載の発明は、ポリマー材料により形成した平板状の基板と、上記基板の上面に配設される平板状の表面板とを有し、上記基板の上面に、所定の形状の流路を構成するキャピラリーチャンネルを形成し、上記表面板によって上記キャピラリーチャンネルを封止したものである。

【0022】なお、表面板は、例えば、PMMA（ポリメチルメタクリレート）、PDMS（ポリジメチルシロキサン）、ガラスなどにより形成することができる。

【0023】また、本発明のうち請求項2に記載の発明は、本発明のうち請求項1に記載の発明において、上記基板は、PDMS（ポリジメチルシロキサン）により形成したものである。

【0024】また、本発明のうち請求項3に記載の発明は、本発明のうち請求項1または請求項2のいずれか1項に記載の発明において、上記基板の上面に形成されたキャピラリーチャンネルの表面を親水化したものである。

【0025】また、本発明のうち請求項4に記載の発明は、本発明のうち請求項3に記載の発明において、上記基板の上面に形成されたキャピラリーチャンネルの表面の親水化は、上記基板の上面に形成されたキャピラリーチャンネルの表面を酸素プラズマにより酸化して親水化したものである。

【0026】また、本発明のうち請求項5に記載の発明は、キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの製造方法において、キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップにおけるキャピラリーチャンネルのレイアウトのパターンを透明フィルムに印刷してフォトリソグラフィのマスクを作成する第1の処理と、シリコンウエハ上にネガティブフォトリソグレイを作成する第2の処理と、上記第1の処理により作成されたマスクに印刷されたレイアウトのパターンを、上記第2の処理により作成されたネガティブフォトリソグレイ上に転写して現像することにより、マスターを作成する第3の処理と、上記第3の処理により作成されたマスターをフルオロカーボンで処理する第4の処理と、上記第4の処理によりフルオロカーボンで処理されたマスター上にPDMSのプレポリマーとキュアリング試薬との混合液を注いで所定温度で所定時間キュアリングする第5の処理と、上記第5の処理にお

ける所定時間のキュアリングを終了した後に、PDMSレプリカをマスターから引き剥がし、該PDMSレプリカをキャピラリーチャンネルを形成された基板として得る第6の処理と、上記第6の処理において得られた基板に表面板を被せて取り付け封止する第7の処理と、上記第7の処理において表面板を取り付けたPDMSの基板に形成されたキャピラリーチャンネルの表面を親水化する第8の処理とを有するようにしたものである。

【0027】また、本発明のうち請求項6に記載の発明は、本発明のうち請求項5に記載の発明において、上記第8の処理におけるPDMSの基板に形成されたキャピラリーチャンネルの表面の親水化は、上記第7の処理において表面板を取り付けたPDMSの基板を酸素プラズマにより酸化することにより、該基板に形成されたキャピラリーチャンネルを酸素プラズマにより酸化して該キャピラリーチャンネルの表面を親水化するようにしたものである。

【0028】なお、上記した親水化の処理は、本発明のうち請求項6に記載の発明に記載した酸化プラズマによる酸化によるものの他に、適宜に他の手法を用いて親水化を図ってもよい。

【0029】

【発明の実施の形態】以下、添付の図面に基づいて、本発明によるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法の実施の形態の一例を詳細に説明するものとする。

【0030】図1(a)(b)には、本発明によるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの実施の形態の一例が示されており、図1(a)は図1(b)におけるA矢視図であり、図1(b)は図1(a)におけるB-B線による断面図である。

【0031】このキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10は、PDMSにより形成された平板状の基板12と、この基板12の上面12aに配設されるPMMA（ポリメチルメタクリレート）により形成された平板状の表面板14とを有して構成されている。

【0032】そして、基板12の上面12aには、キャピラリーチャンネルとして、所謂、I字型の流路を構成するキャピラリーチャンネル16が形成されている。

【0033】即ち、表面板14によって、基板12の上面12aに形成されたキャピラリーチャンネル16が封止（シール）されているものである。

【0034】また、表面板14には、表面板14の上面14aから下面14bへ貫通するようにして形成された開口部たる、サンプル導入ならびに電極装着のための2つのポート18a、18bが穿設されている。

【0035】ここで、2つのポート18a、18bとキャピラリーチャンネル16とは、2つのポート18a、18bの一部にキャピラリーチャンネル16の両方の端部16a、16bとがそれぞれ位置するように寸法設定され

て配置されており、ポート18aと端部16aとが連通し、ポート18bと端部16bとが連通するようになされている。

【0036】また、キャピラリーチャンネル16の長さは、例えば、14mmに設定され、キャピラリーチャンネル16の幅は、例えば、400 μ mに設定され、キャピラリーチャンネル16の深さは、例えば、40 μ mに設定されている。

【0037】なお、キャピラリーチャンネル16の長さは特に限定されるものではなく、必要に応じて任意に設定することができるものであり、また、キャピラリーチャンネル16の幅は特に限定されるものではなく、必要に応じて任意に設定することができるものであり、例えば、10 μ m～800 μ mの間の任意の値に設定することが可能であり、また、キャピラリーチャンネル16の深さは特に限定されるものではなく、必要に応じて任意に設定することができるものであり、例えば、5 μ m～150 μ mの間の任意の値に設定することができる。

【0038】また、上記したキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10を製造するためには、図2(a) (b) (c) (d) (e)を参照しながら説明する製造プロセスを行うものであるが、その製造プロセスに先だて、まずキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10におけるキャピラリーチャンネル16のレイアウトのパターンを、フォトリソグラフィーのマスクとして利用するために、高解像度、例えば、4064dpiで透明フィルムに印刷しておくものである。

【0039】次に、上記したPDMSにより形成された基板12を備えたキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10を形成するためのプロセスについて、詳細に説明することとする。

【0040】図2(a) (b) (c) (d) (e)には、キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10の製造プロセスの概略が示されている。

【0041】はじめに、20mm×20mmのシリコン(Si)ウエハをオープンで乾燥させ(図2(a))、ネガティブフォトリソレジストSU-8を2,500rpmで20秒間スピン塗布し、その後に、90℃のオープンで30分間保温する(図2(b))。

【0042】ところで、この実施の形態においては、40 μ mの深さのキャピラリーチャンネル構造を作成するために、ネガティブフォトリソレジストSU-8を2,500rpmで20秒間スピン塗布し、その後に、90℃のオープンで30分間保温するという処理を、2回ほど繰り返して行った。

【0043】次に、マスク上に印刷したキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10におけるレイアウトのパターンは、マスクアライナー(なお、マスクアライナーとしては、例えば、「PEM-800; Union Optical Co., Tokyo, Japan」

を用いることができる。)を用いて、SU-8を塗布したシリコンウエハにフォトリソグラフィーの手法で転写し、1-メトキシ-2-プロピル酢酸中に20分間入れ現像した(図2(c))。

【0044】こうして作製したマスターは、イソプロピルアルコール、引き続いて、蒸留水で洗浄した。

【0045】次に、PDMSのプレポリマーを注ぎ入れる前に、RIE(Reactive Ion Etching: 反応性イオンエッチング)システムを用いて、このマスターをフルオロカーボンで処理した。

【0046】なお、フルオロカーボン処理は、型取り後のPDMSレプリカの取り外しに役に立つ。

【0047】それから、PDMSのプレポリマーとキュアリング試薬(キュアリング試薬としては、例えば、「Sylgard 184; Dow Corning Co., MI」を用いることができる。)とを「10:1」の割合で混合し、充分に攪拌した後に15分間だけ真空脱気してプレポリマー混合液を作成する。こうして作成されたプレポリマー混合液をマスター上に注ぎ、65℃で1時間、それから135℃で15分間キュアリングを行った(図2(d))。

【0048】上記したキュアリングの後に、PDMSレプリカをマスターから引き剥がすことにより、PDMSの基板12が得られることになる。そして、このPDMSの基板12を、ポート18a、18bが穿設されたPMMAの表面板14に被せて取り付けて、キャピラリーチャンネル16を封止(シール)するものである(図2(e))。

【0049】なお、この実施の形態において「キャピラリーチャンネル16を封止(シール)する」とは、キャピラリーチャンネル16を完全に密閉することを意味するものではなく、キャピラリーチャンネル16の両方の端部16a、16bは、2つのポート18a、18bとそれぞれ連通するようになされている。

【0050】さらに、RIEシステムを用いてPMMAの表面板14に貼り付けたPDMSの基板12を酸素プラズマで酸化することにより、キャピラリーチャンネル16を酸素プラズマで酸化してキャピラリーチャンネル16の表面を親水化した。

【0051】なお、キャピラリーチャンネル16の表面を親水化の手法は、上記したように酸素プラズマで酸化する手法に限られるものではなく、適宜に他の手法を用いることができる。

【0052】次に、このキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10における電気泳動分離に用いるゲルの調製について説明する。

【0053】まず、アガロースの粉末(アガロースの粉末としては、例えば、「SeaKem GTG agarose; FMC BioProducts, ME」を用いることができる。)をオープンで加熱しながら1倍

のTBE (トリスホウ酸 EDTA) 緩衝液に溶解して、アガロース溶液を作成する。このアガロース溶液をオープン内で65℃に保持し、毛管作用を利用してキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10のポート18a、18bからキャピラリーチャンネル16に導入し、室温で5分間放置して固化させた。

【0054】次に、実験に用いるサンプルの調製、サンプルの導入ならびに電気泳動分離について説明すると、まず、FITC (フルオロセインイソチオシアナート) で標識した100bp毎のDNAサイズスタンダード (FITCで標識した100bp毎のDNAサイズスタンダードは、例えば、「Bio-Rad Co.」から購入することができる。) を4℃で保存する。

【0055】それから、2μLのDNAラダー (サイズスタンダード) 溶液をポート18bに入れる。

【0056】なお、アガロースゲルへのサンプルの導入は、ポート18aとポート18bとに装着された白金電極を通じて、キャピラリーチャンネル16に100Vを印加することによって行った。

【0057】次に、上記のようにしてキャピラリーチャンネル16に導入したサンプルについて、電気泳動分離を行った実験結果について説明する。

【0058】ここで、FITCで標識したDNAの蛍光は、図3に示すように、倒立蛍光顕微鏡 (倒立蛍光顕微鏡は、例えば、「DIAPHOT-TMD; Nikon Co., Japan」を用いることができる。) 100と、倒立蛍光顕微鏡100からの光を入射するICCDカメラ (ICCDカメラは、例えば、「C2400-8; 浜松フォトニクス」を用いることができる。) 102と、ICCDカメラ102から出力された画像信号を記録するビデオカメラ104とを有して構成されたシステムによって検出した。

【0059】なお、倒立蛍光顕微鏡100は、キセノンランプ106と、キセノンランプ106から照射された光を選択的に透過するバンドパスフィルター108と、バンドパスフィルター108から透過された光を透過してキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10へ照射するとともに当該キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10から反射された光を反射するダイクロイックミラー110と、ダイクロイックミラー110によって反射された光を選択的に透過してICCDカメラ102へ入射するバンドパスフィルター112とを有して構成されている。

【0060】ここで、フルオレセインは488nmで励起されて、発光は513nm付近であり、電気泳動の画像はビデオカメラ104で記録したものである。

【0061】そして、実験後において、電気泳動画像を画像解析プログラム (画像解析プログラムとしては、例えば、「NIH image 1.62a」を用いることができる。) を用いてデジタル化した。また、電気泳

動の経時変化は、デジタル化したデータを所定のコンピュータプログラムを用いて処理することによって得た。

【0062】図4には、PDMSにより形成された基板12上に作成されたキャピラリーチャンネル16の走査電子顕微鏡写真が示されている。この図4に明瞭に示されているように、PDMSにより形成された基板12を用いると、シリコンより形成されたマスター上のフォトリソの構造を、高い再現性で転写することができるものである。

【0063】なお、シリコンより形成されたマスターを用いて型取りしたPDMSの基板12の表面は、本来は疎水的であり、キャピラリーチャンネル16とゲル溶液との間の毛管作用を妨げている。

【0064】このため、この実施の形態においては、毛管作用によってキャピラリーチャンネル16にアガロース溶液を充填するために、上記したように酸素プラズマによる2分間の表面処理を行った。その結果、PDMSの基板12に対する水の接触角は108°から32°に変化し、基板12の表面、即ち、キャピラリーチャンネル16の表面を親水化することができた。

【0065】なお、キュアリングしたPDMSの基板12は、手間のかかる接着方法を必要とすることなしに、常温でPMMAの表面板14に吸着させることができた。さらに、このフォトリソのパターンを形成させたシリコンより形成されたマスターは、型取りの前にフルオロカーボン処理をするだけで、何回も利用することができるものである。

【0066】このような製造プロセスを勘案すると、キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10は極めて安価に製造することが可能であるので、1回のみ電気泳動分離に使用しただけで廃棄するという使い捨て使用に適している。

【0067】また、この実施の形態においては、分子篩いとしてアガロースゲルを用いたが、一般に、ゲルを充填したキャピラリーチャンネルを均質で安定的に調製することが困難であることが知られている。

【0068】ここで、電気泳動中のゲルの不安定性、即ち、ゲル内部での気泡の生成と閉塞は、電場強度とゲルの分離性能とを制限するものである。

【0069】しかしながら、この実施の形態においては、アガロースを表面処理して親水化したキャピラリーチャンネル16に容易に導入し、ゲル化することができるようになる。しかも、全操作を10分以内で行うことが可能である。

【0070】また、気泡の生成やアガロースゲルの形態的な変化は、300Vを印加した電気泳動中においても観察されなかった。

【0071】なお、図5(A)(B)(C)には、DNA分子の導入と分離との状況が示されている。

【0072】即ち、100Vの電圧を1秒間印加するこ

とにより、サンプルのアラグを形成することにできた(図5(A))。

【0073】なお、この分離の過程は、図3に示すシステムによって可視化され、バンドの移動を明白に観察することができた(図5(B)ならびに図5(C))。この分離は、TBE緩衝液を用いた2.0%のアガロースゲルに、71.4V/cmの電場を印加することによって達成された。この電場強度は、通常の微細加工によるキャピラリー電気泳動の場合の数kVと較べて低いレベルである。

【0074】また、図6には、100bp~1000bpのDNAサイズスタンダードを用いて、アガロースゲルをキャピラリーチャンネル16に充填したキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10の電気泳動の経時変化が示されている。この図6に示すグラフに示されているように、100bp~1000bpの範囲のDNA分子を2分以内で分離することができた。

【0075】これは、通常のスラブゲルの電気泳動の分離と比較すると、10倍から20倍ほど高速である。

【0076】即ち、上記において、本発明によるPDSMを用いたキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10について説明したように、このキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10は簡易で安価な型取りとシーリングの方法で容易に作成することができるものであり、このキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10はDNA分離のために十分に利用可能である。

【0077】なお、上記した実施の形態においては、キャピラリーチャンネルとして、所謂、“I”字型の流路のキャピラリーチャンネル16を基板12に形成するようにしたが、これに限られるものではないことは勿論である。即ち、キャピラリーチャンネルとして、例えば、図7に示すように、所謂、“十”字型の流路のキャピラリーチャンネルを基板12に形成するようにしてもよい。そして、“十”字型の流路のキャピラリーチャンネルを基板12に形成した場合には、表面板14には、“十”字型の流路のキャピラリーチャンネルの4個の端部に対応するように4個のポートを穿設するものである。

【0078】

【発明の効果】本発明は、以上説明したように構成されているので、安価に製造することができて1回のみ電気泳動分離に使用しただけで廃棄するのに適した、即ち、使い捨て可能なキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法を提供することができる。

【0079】また、本発明は、以上説明したように構成されているので、分子篩いとしてゲルを用いることを可能にして、高電圧を使用することなく低電圧で電気泳動

分離を行うことができるようにするとともに、電圧印加のときにおける拡散や対流の発生を抑止するようにし、これにより電気設備および検出装置の簡潔化を図ってコストを大幅に低減することができるようにしたキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法を提供することができる。

【0080】また、本発明は、以上説明したように構成されているので、分子篩いとしてゲルを用いることを可能にして、電気泳動分離における分離度の向上、分離距離の短縮化および分離時間の短縮化を図ることにより、電気泳動分離における分離性能を向上させ、高分解能の電気泳動分離を行うことを可能にしたキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップおよびその製造方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明によるキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの実施の形態の一例を示し、(a)は(b)におけるA矢視図であり、(b)は(a)におけるB-B線による断面図である。

【図2】(a)(b)(c)(d)(e)は、キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ10の製造プロセスを示す概略説明図である。

【図3】FITCで標識したDNAの蛍光を検出するためのシステムの構成説明図である。

【図4】図1に示すキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの基板に形成されたキャピラリーチャンネルの走査電子顕微鏡写真である。

【図5】(A)(B)(C)は、DNA分子の導入と分離との状況を示す顕微鏡写真である。

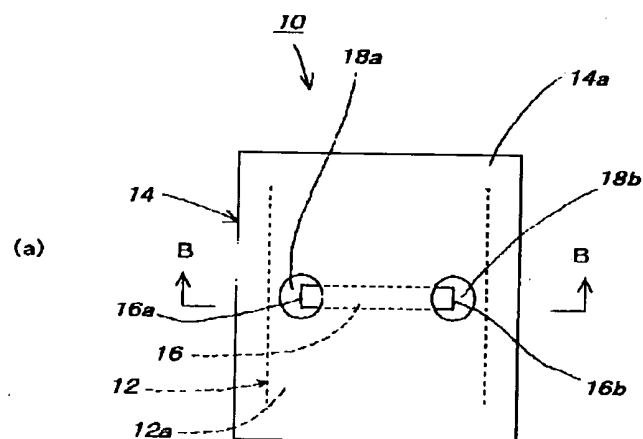
【図6】100bp~1000bpのDNAサイズスタンダードを用いた、アガロースゲルをキャピラリーチャンネル16に充填したキャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの電気泳動の経時変化を示すグラフである。

【図7】キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップの基板に形成されたキャピラリーチャンネルの他の形状を示す走査電子顕微鏡写真である。

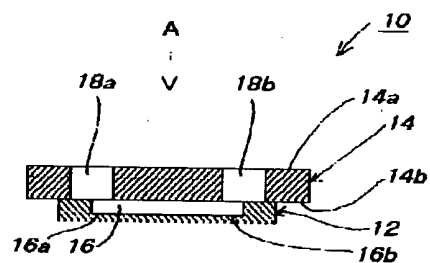
【符号の説明】

10	キャピラリーゲル電気泳動用マイクロチップ
12	基板
12a、14a	上面
14	表面板
14b	下面
16	キャピラリーチャンネル
16a、16b	端部
18a、18b	ポート

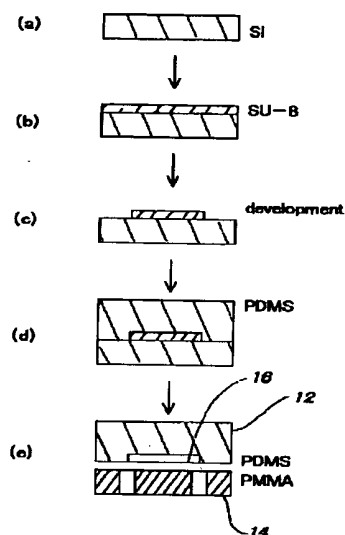
【図1】



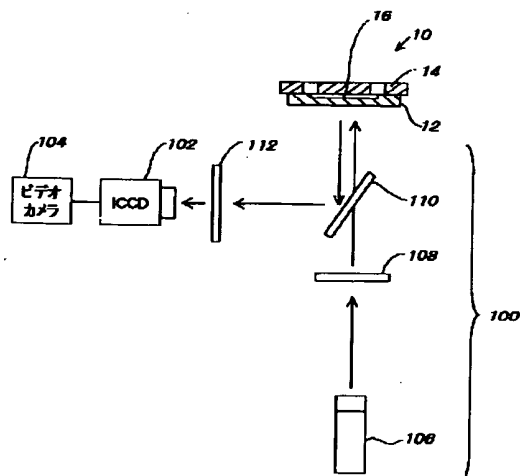
(b)



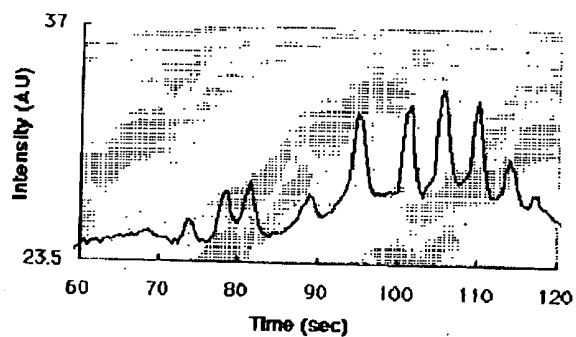
【図2】



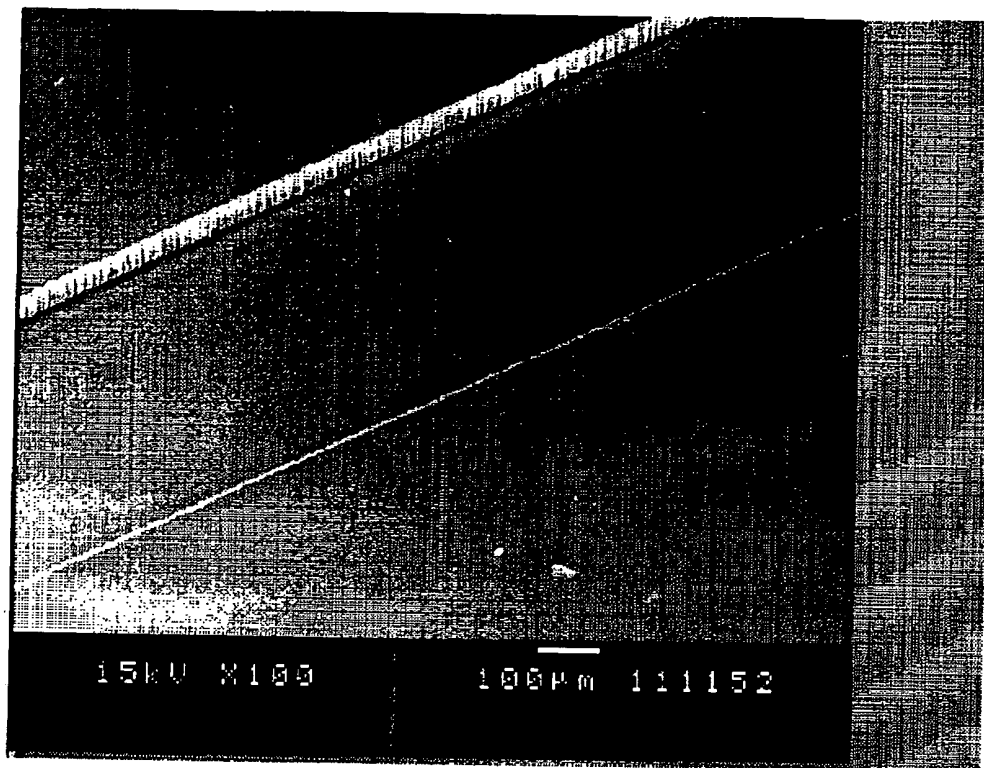
【図3】



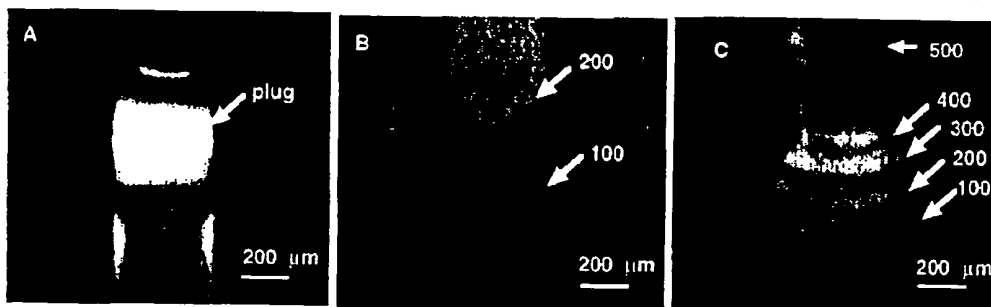
【図6】



【図4】



【図5】

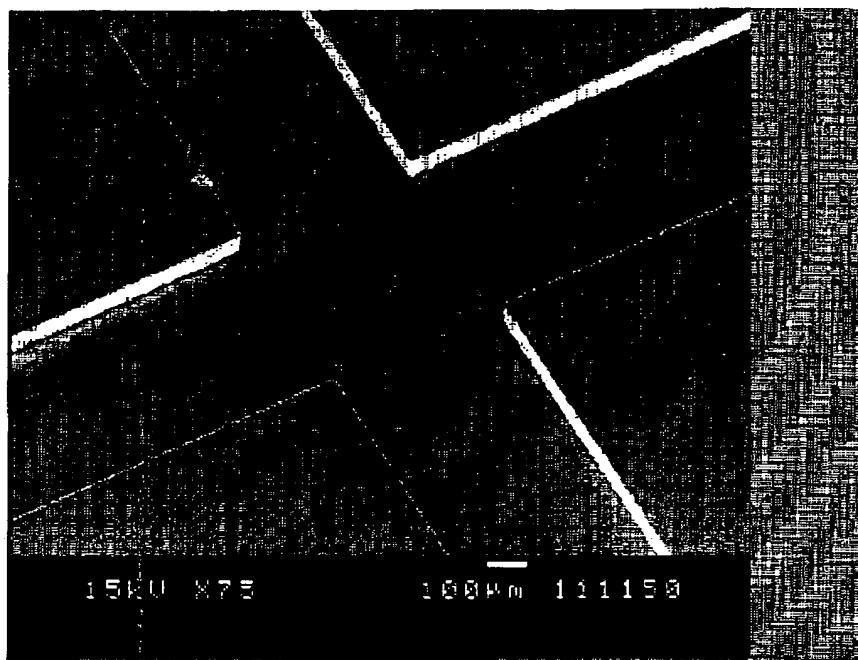


(A)

(B)

(C)

【図7】



フロントページの続き

(72)発明者 遠藤 勲

埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所
内

(72)発明者 細川 和生

埼玉県川口市元郷4-20-8

Fターム(参考) 4B029 AA07 AA23 BB15 BB20 CC01

CC05 FA12 FA15

4D054 FB09 FB18